

## 明 細 書

### 環境汚染物質の浄化処理方法

#### 技術分野

本発明は微生物を用いた環境汚染物質の浄化処理方法に関する。より詳細には、本発明は、環境汚染物質の影響によって微生物の生物活性が低下することを防止しながら該微生物の存在下で上記環境汚染物質を濃縮状態にすることによって、より効率的に環境汚染物質を生分解して浄化（資化分解）をすすめる方法に関するものである。

#### 技術背景

従来から廃棄物として放出される各種環境汚染物質の処理法として、焼却、埋め立て、海洋投棄、化学処理、物理処理、及び生物処理等がある。中でも生物処理は、環境汚染物質の形態によって、下水処理や工業排水処理等の水系処理と、プラスチック等の化学製品や生ゴミの処理等の固体系処理の2つに大きく分けられる。かかる生物処理は、他の処理方法と比べて環境に対する2次汚染が少ないという利点があるため、環境汚染物質の浄化方法として多大の期待がもたれている。

しかしその反面、生物処理は微生物の処理能力に依存するため、環境汚染物質の浄化効率が、それに使用する微生物によって大きく左右されるという問題がある。例えば、環境汚染物質が微量しか含まれていない排水等を微生物を利用して浄化する場合、対象とする汚染物質に混じって多量に存在する他の成分を資化分解する他の微生物群の生育や増殖が生じ、その結果、目的の環境汚染物質を生分解する微生物の増殖が抑制されて浄化処理が十分にできないという問題がある。また環境汚染物質は、ある一定濃度以上で微生物の生育を阻害するため、高濃度の環境汚染物質を微生物を用いて生物処理するのは容易でない。

このため、近年、より効率のよい生物浄化処理を行うために、環境汚染物質に対して資化分解能の高い微生物を純粋培養して利用する方法が採られるようにな

ってきた。さらに、最近では資化分解能の高い微生物を無機物や有機物の担体に固定化した固定化微生物の利用が検討されている。

上記生物処理において残された最も重要な課題は、資化分解能の高い微生物に環境汚染物質をいかに効率よく補足させて、効果的に資化分解を行うかである。かかる方法として、活性炭やゼオライト等の多孔質の担体に微生物を吸着させて調製した固定化微生物に、微生物の生育阻害を起こさせない範囲まで希釈した環境汚染物質を接触、吸着させて、微生物と環境汚染物質とを担体の孔内で作用させる方法が検討されている。しかし、この方法によると、吸着された環境汚染物質が担体の孔内で高濃度になるため、微生物の生育が阻害され、期待するほど環境汚染物質が資化分解できないのが実情である。

#### 発明の開示

本発明は、微生物を利用した生物処理によって環境汚染物質を浄化する場合において、環境汚染物質を効率的に濃縮しながらも、環境汚染物質を生分解するために利用する微生物の生物活性が上記濃縮された高濃度の環境汚染物質によってあまり影響を受けずに、効果的に環境汚染物質を浄化（資化分解）する方法を提供することを目的とする。さらに本発明は、かかる環境汚染物質の浄化（資化分解）方法を効果的に実施するのに利用できる微生物処理剤を提供することを目的とする。

本発明者らは、上記目的を達成すべく鋭意検討したところ、微生物が産生する高分子を用いて生物処理に使用する微生物を包括することにより、高濃度の環境汚染物質の共存下でも該微生物の生育があまり妨げられずに、汚染物質の資化分解に必要な生物活性が維持できることを見出し、さらに上記微生物産生高分子と環境汚染物質を共存させると汚染物質が微生物産生高分子内に包括されて効率的に濃縮されることを見出した。本発明者らは、これらの知見に基づいてさらに研究を重ねたところ、さらに環境汚染物質を微生物産生高分子で包括させた状態で、該汚染物質を資化分解する微生物を共存させることにより、微生物の生物活性が妨げられることなく高濃度の環境汚染物質を効率よく浄化（資化分解）処理できることを確認した。本発明はかかる知見に基づくものである。

すなわち、本発明は下記（１）～（９）に記載する、微生物を利用した環境汚染物質の浄化処理方法である。

（１）環境汚染物質及び微生物をそれぞれ微生物産生高分子との包括状態のもとで共存させることを特徴とする、環境汚染物質の浄化処理方法。

（２）微生物産生高分子として、フラクトシル基にフラクトフラノシル基が $\beta$ -2, 6で結合している糖成分を含有する高分子を用いることを特徴とする上記の環境汚染物質の浄化処理方法。

（３）微生物産生高分子として、グルタミン酸、ロイシン、アラニン及びフェニルアラニンよりなる群から選択される少なくとも１種のアミノ酸を含むポリアミノ酸を用いることを特徴とする上記の環境汚染物質の浄化処理方法。

（４）微生物産生高分子として、グルタミン酸、ロイシン、アラニンまたはフェニルアラニンから実質的に構成されるポリアミノ酸を用いることを特徴とする上記の環境汚染物質の浄化処理方法。

（５）微生物産生高分子として、グルタミン酸、ロイシン、アラニン及びフェニルアラニンよりなる群から選択される１種のアミノ酸を６５％以上の割合で含むポリアミノ酸を用いることを特徴とする上記の環境汚染物質の浄化処理方法。

（６）微生物産生高分子をカチオン性無機塩の存在下で用いることを特徴とする上記の環境汚染物質の浄化処理方法。

（７）カチオン性無機塩が、塩化アルミニウム、硫酸アルミニウム、アルミン酸ナトリウム、塩化カルシウム、硫酸第１鉄、塩化第二鉄、硫酸第３鉄及び塩化コッパラスよりなる群から選択されるいずれか少なくとも１種である上記（６）の環境汚染物質の浄化処理方法。

（８）微生物が、Pseudomonas属、Rhodococcus属、Aeromonas属、Rhizobium属、Sphingomonas属、Arthrobacter属、Frateruia属、Flavobacterium属及びBacillus属よりなる群から選択される属に属する微生物の少なくとも１種である上記の環境汚染物質の浄化処理方法。

（９）環境汚染物質が、ポリ塩素化ビフェニル、ダイオキシン、ジクロロエチレン、ジクロロエタン、トリクロロエチレン、トリクロロエタン、水銀若しくはその化合物及びセレン若しくはその化合物よりなる群から選択される少なくとも１

種である上記の環境汚染物質の浄化処理方法。

さらに本発明は上記環境汚染物質の浄化方法に有用な微生物処理剤である：

(10) 微生物が微生物産生高分子に包括されてなる微生物処理剤。

(11) 微生物が、Pseudomonas属、Rhodococcus属、Aeromonas属、Rhizobium属、Sphingomonas属、Arthrobacter属、Frateriella属、Flavobacterium属及びBacillus属よりなる群から選択される属に属する微生物の少なくとも1種である上記の微生物処理剤。

(12) 微生物が、Pseudomonas属、Rhodococcus属、Aeromonas属、Rhizobium属、Sphingomonas属、Arthrobacter属、Frateriella属、Flavobacterium属及びBacillus属よりなる群から選択される属に属する微生物の2種以上の混合物である上記の微生物処理剤。

(13) 微生物産生高分子が、フラクトシル基にフラクトフラノシル基が $\beta-2,6$ で結合している糖成分を含有する高分子、またはグルタミン酸、ロイシン、アラニン及びフェニルアラニンよりなる群から選択される少なくとも1種のアミノ酸を含むポリアミノ酸である上記微生物処理剤。

(14) 微生物産生高分子が、グルタミン酸、ロイシン、アラニンまたはフェニルアラニンから実質的に構成されるポリアミノ酸である上記の微生物処理剤。

(15) 微生物産生高分子が、グルタミン酸、ロイシン、アラニン及びフェニルアラニンよりなる群から選択される1種のアミノ酸を65%以上の割合で含むポリアミノ酸である上記の微生物処理剤。

(16) 微生物産生高分子をカチオン性無機塩との共存状態で用いる上記(10)に記載の微生物処理剤。

(17) カチオン性無機塩が塩化アルミニウム、硫酸アルミニウム、アルミン酸ナトリウム、塩化カルシウム、硫酸第1鉄、塩化第2鉄、硫酸第3鉄及び塩化銅よりなる群から選択されるいずれか少なくとも1種である上記(16)記載の微生物処理剤。

(18) 環境汚染物質を資化分解するために使用される上記(10)記載の微生物処理剤。

(19) 環境汚染物質が、ポリ塩素化ビフェニル、ダイオキシン、ジクロロエチレ

ン、ジクロロエタン、トリクロロエチレン、トリクロロエタン、エチレン、水銀若しくはその化合物及びセレン若しくはその化合物よりなる群から選択される少なくとも1種である上記の微生物処理剤。

#### 発明を実施するための最良の形態

本発明は、環境汚染物質を微生物と一緒に微生物産生高分子との包括状態のもとに置くことによって、微生物による環境汚染物質の資化分解を効率的に行って環境汚染物質を浄化処理する方法である。

本発明において用いられる「包括」若しくは「包括状態」には、微生物産生高分子が環境汚染物質と微生物とを取り囲んでいる（包み込んでいる）状態や環境汚染物質が微生物と微生物産生高分子で被覆されている状態がいずれも包含される。これらの状態は、制限はされないが、例えば、自然環境下又は人工的な微生物生育環境下において微生物の生育過程で分泌される微生物産生高分子を環境汚染物質と接触させることによって形成され、これによれば微生物の更なる増殖に従って産生される微生物産生高分子によって環境汚染物質と微生物が取り囲まれる（包み込まれる）状態が生じる。また包括状態は、人為的に微生物産生高分子と微生物とを環境汚染物質と接触させて混合することによって形成することができる。これによれば環境汚染物質を微生物と微生物産生高分子との被覆状態に置くことができる。

本発明が対象とする環境汚染物質は、環境（人間やその他動植物等の生き物全般の生態や生活環境及び自然環境を含む）を汚染する原因となる物質を広く意味するものであり、水溶性や不溶性等といった理化学的及び物理的性質等を特に問うものではない。具体的にはポリ塩素化ビフェニル、ダイオキシン、ジクロロエチレン（1,1-ジクロロエチレン、トランス1,2-ジクロロエチレン、シス-1,2-ジクロロエチレン）、ジクロロエタン（1,2-ジクロロエタン等）、トリクロロエタン（1,1,1-トリクロロエタン、1,1,2-トリクロロエタン）、トリクロロエチレン、1,2-ジクロロプロパン、1,3-ジクロロプロペン、p-ジクロロベンゼン、ジクロロメタン、テトラクロロエチレン等の塩素系有機化合物；水銀及びその化合物、セレン及びその化合物などの無機系化合物を例示することができる。

ここでダイオキシン類とは、ポリ塩化ジベンゾーパラジオキシン(PCDDs)、ポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs)及びコプラナーポリ塩化ビフェニル(コプラナーPCBs、共平面構造型塩化ビフェニル)を含む化合物群の総称である。具体的にはポリ塩化ジベンゾーパラジオキシン(PCDDs)としては四塩化ジベンゾーパラジオキシン(TeCDDs)、五塩化ジベンゾーパラジオキシン(PeCDDs)、六塩化ジベンゾーパラジオキシン(HxCDDs)、七塩化ジベンゾーパラジオキシン(HpCDDs)及び八塩化ジベンゾーパラジオキシン(OCDD)等を；ポリ塩化ジベンゾフラン(PCDFs)としては四塩化ジベンゾフラン(TeCDFs)、五塩化ジベンゾフラン(PeCDFs)、六塩化ジベンゾフラン(HxCDFs)、七塩化ジベンゾフラン(HpCDFs)、八塩化ジベンゾフラン(OCDF)等を例示することができる。またコプラナーPCBsとは、塩素化ビフェニルのオルト位に塩素が配位していないか、または1つ或いは2つ配位している化合物であり、オルト位非塩素置換型塩化ビフェニル(ノンオルトCBs、4種)、オルト位1塩素置換型塩化ビフェニル(モノオルトCBs、8種)、及びオルト位2塩素置換型塩化ビフェニル(ジオルトCBs、2種)の計14種類を挙げることができる。また、その他のポリ塩素化ビフェニルとしては、四塩化ビフェニル(TeCB)、五塩化ビフェニル(PeCB)及び六塩化ビフェニル(HxCB)、七塩化ビフェニル(TeCB)、3,4,5,3,4,5-TCBs等を挙げることができる。

さらにその他の環境汚染物質として下記のを例示することができる：亜鉛化合物、アクリロニトリル、アセトアルデヒド、アンチモン及びその化合物、イソオキサン、イプロベンホス、エチレンオキシド、塩化水素、クロロタロニル、塩化ビニル、塩素、カドミウム及びその化合物、キシレン類、クロム化合物、シマジン、チオベンカルブ、クロロホルム、クロロメチルメチルエーテル、シアン化合物、イソプロチオラン、ダイアジノン、四塩化炭素、カルバミン酸-2-sec-ブチルフェニル、モリブデン及びその化合物、ジクロロボス、フェニトロチオン、銅化合物、トリフェニルスズ化合物、トリブチルスズ、トルエン、鉛化合物、ニッケル化合物、チウラム、バナジウム及びその化合物、砒素及びその化合物、フェニルチオリン酸(0-Ethyl-0-4-nitrophenyl)、1,3-ブタジエン、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)、フッ化水素、フッ素及びその化合物、プロピサミド、ベリリウム及びその化合物、ベンゼン、ホウ素及びその化合物、ホルムアルデヒド、

マンガン化合物など。

本発明で用いられる微生物は、上記環境汚染物質を資化分解する能力を有するものであれば特に制限されず、この限りにおいて、例えば従来より化学物質や廃水を始めとする各種の廃棄物の生物処理に使用されている従来公知の微生物、また将来利用される微生物を広く挙げることができる。具体的には、かかる微生物としては、活性汚泥、堆肥、生物処理廃棄物、各種キノコ類（シイタケ、シメジ、エノキタケ、ヒラタケ、ブナシメジ、マッシュルーム、ナメコ、フウセンタケ、マツタケ、カワラダケ、ヒメタケ、ホウロクダケ等の担子菌類など）及び排水

（廃水）処理液等に含まれている各種の微生物、並びに固形又は液体の微生物剤として市販されている微生物を、粗精製状態及び精製状態の別なく例示することができる。また本発明においては、上記する活性汚泥、キノコ類、生物処理廃棄物や排水（廃水）処理液などを種菌として混合培養や純粋培養し、これから固液分離することによって得られる菌体を微生物として使用することもできる。

微生物として、好ましくは*Pseudomonas*属、*Rhodococcus*属、*Aeromonas*属、*Rhizobium*属、*Sphingomonas*属、*Arthrobacter*属、*Frateuria*属、*Flavobacterium*属または*Bacillus*属に属する菌を挙げることができる。なお、これらの菌は1種単独で使用することもできるが、任意の2種以上の菌を共生状態にして使用することが好ましい。この場合に使用される微生物の組合せとしては、制限はされないが、*Bacillus*属と*Flavobacterium*属、*Rhodococcus*属と*Aeromonas*属、*Pseudomonas*属と*Rhizobium*属、*Sphingomonas*属と*Bacillus*属、*Flavobacterium*属と*Arthrobacter*属を例示することができる。

上記環境汚染物質と微生物を包括状態にして共存させるために使用される微生物産生高分子としては、微生物によって本来的に産生される高分子を広く挙げることができる。ただし、使用する微生物産生高分子そのもの自体は、微生物によって直接産生されたものである必要はない。好ましくは*Zoogloer*属に属する細菌が産生する凝集性又は粘着性の多糖類；*Bacillus*属、*Acetobacter*属または*Pseudomonas*属等に属する細菌が産生するレバン；フラクトシル基にフラクトフラノシル基が $\beta$ -2, 6で結合している糖成分を有している高分子（多糖類、糖蛋白及び配糖体等を含む）；並びにポリアミノ酸、好ましくは*Bacillus*属が産生する各

種のポリアミノ酸を挙げることができる。

かかる高分子は特に制限されないが、通常1万以上、好ましくは2万以上の分子量を有するものであることが望ましい。より好ましくは10万～300万の分子量を有する高分子である。

ポリアミノ酸を構成するアミノ酸としては、制限はされないが、グルタミン酸、ロイシン、アラニン又はフェニルアラニンを好適に挙げることができる。本発明で使用されるポリアミノ酸は、実質的にかかるアミノ酸の1種から構成されるホモのポリアミノ酸であってもよいが、これらのアミノ酸を2種以上含むか、または上記アミノ酸に加えて他のアミノ酸を1種若しくは2種以上含むヘテロなポリアミノ酸であってもよい。好ましくはポリアミノ酸を構成する全アミノ酸の65%以上、好ましくは75%以上、より好ましくは80%以上が同一のアミノ酸からなるものであることが望ましい。

微生物産生高分子の形状は特に制限されず、液状、ゲル状、フォーム状、並びに粉末状や顆粒状等の固形状のいずれであってもよいが、好ましくは粉末状である。

環境汚染物質と微生物を上記微生物産生高分子で包括する方法としては、環境汚染物質を微生物産生高分子で包括した後に微生物を混合する方法、微生物を微生物産生高分子で包括した後に環境汚染物質を混合する方法、または環境汚染物質と微生物をそれぞれ別個に微生物産生高分子で包括した後に両者を混合する方法のいずれの方法をも採用することができる。なお、微生物及び／又は環境汚染物質を微生物産生高分子で包括するためには、通常10重量%以上、好ましくは50重量%以上、より好ましくは70重量%以上の水を介在させることが望ましい。

具体的には、微生物産生高分子による環境汚染物質の包括は、環境汚染物質を10重量%以上、好ましくは50重量%以上、より好ましくは70重量%以上の水の存在下で微生物産生高分子と混合することによって実施でき、これによってゲル状、ペレット状またはフロック状に調製することができる。また微生物産生高分子による微生物の包括は、環境汚染物質を10重量%以上、好ましくは50重量%以上、より好ましくは70重量%以上の水の存在下で微生物と混合するこ



とによって実施でき、これによってゲル状、ペレット状またはフロック状に調製することができる。

かくして、環境汚染物質及び微生物をそれぞれ水分の存在下で微生物産生高分子に包括させることができ、これによって環境汚染物質と微生物の両者を微生物産生高分子内に包括状態で共存させることができる。

微生物産生高分子はそれ単独で使用することもできるが、カチオン性無機塩と共に使用することができ、該無機塩を配合した微生物産生高分子剤として用いられることが好ましい。かかるカチオン性無機塩としては特に制限はされないが、塩化アルミニウム、硫酸アルミニウム及びアルミン酸ナトリウムなどのアルミニウム塩、硫化第1鉄、塩化第2鉄、硫酸第3鉄及び塩化コッパラス等の鉄塩、塩化カルシウムや炭酸カルシウム等のカルシウム塩、塩化ナトリウム等のナトリウム塩、塩化カリウム、リン酸水素2カリウム及びリン酸2水素カリウム等のカリウム塩、その他、硫酸アンモニウム、硫酸マグネシウム、硫酸マンガン、硫酸コバルトが例示される。

微生物産生高分子とカチオン性無機塩は、いずれもその形態を問うことなく液体状や粉末等の固体状の任意の形態で混合することができる。好ましい形態は両者ともに粉末状態である。両者の混合割合としては、特に制限されないが、微生物産生高分子100重量部に対してカチオン性無機塩0.1～1000重量部、好ましくは5～100重量部の範囲を挙げることができる。またさらに微生物産生高分子は、任意成分としてガラクトマンナン類、澱粉、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩（アルギン酸ナトリウム、アルギン酸カリウム）、キサンタンガムやプルランなどの増粘多糖類、キチン、キトサンなどを配合して微生物産生高分子剤として調製することもできる。

このようにして調製される微生物産生高分子若しくは微生物産生高分子剤と微生物との混合は、それぞれが固体か液体状態であるか否かを問わず、菌数 $10^8$ 個/gの微生物に対して微生物産生高分子（微生物産生高分子剤の場合は微生物産生高分子の量に換算して）が1mg～100g、好ましくは10mg～10gとなるような割合で行われる。また、微生物産生高分子若しくは微生物産生高分子剤と環境汚染物質との混合は、それぞれが固体か液体状態であるか否かを問わず、

特に定めるものではないが、 $1\mu\text{g}$ の環境汚染物質に対して微生物産生高分子（微生物産生高分子剤の場合は微生物産生高分子の量に換算して）が $1\text{mg}\sim 100\text{g}$ 、好ましくは $10\text{mg}\sim 10\text{g}$ となるような割合で行われる。

このように調製された微生物産生高分子内に包括され共存状態に置かれた環境汚染物質及び微生物は、水分pHを $5\sim 10$ 、好ましくはpH $6\sim 8$ に調整された後、 $15\sim 50^{\circ}\text{C}$ 、好ましくは $30\sim 40^{\circ}\text{C}$ の温度条件下に置かれることにより、環境汚染物質の資化分解（生分解）が進行する。この場合、静置状態においてもまた攪拌若しくは振盪状態においてもよく、また使用する微生物の種類に応じて、通気状態もしくは嫌気状態のいずれにおいてもよい。通常、かかる条件下で、制限されないが $2\sim 40$ 日で環境汚染物質の生分解が見られる。

また、本発明は上記環境汚染物質の浄化（資化分解）処理に有用な微生物処理剤を提供する。

かかる微生物処理剤は、微生物が上記微生物産生高分子で包括されてなることを特徴とするものである。ここで微生物は前述する微生物を任意に使用することができるが、好ましくは*Pseudomonas*属、*Rhodococcus*属、*Aeromonas*属、*Rhizobium*属、*Sphingomonas*属、*Arthrobacter*属、*Frateriia*属、*Flavobacterium*属または*Bacillus*属に属する菌である。これらの菌は1種単独で使用することもできるが、任意の2種以上の菌を共生状態にして使用することが好ましい。この場合に使用される微生物の組合せとしては、制限はされないが、*Bacillus*属と*Flavobacterium*属、*Rhodococcus*属と*Aeromonas*属、*Pseudomonas*属と*Rhizobium*属、*Sphingomonas*属と*Bacillus*属、*Flavobacterium*属と*Arthrobacter*属を例示することができる。

本発明の微生物処理剤は、上記微生物産生高分子に代えて、微生物産生高分子に前述するカチオン性無機塩、ガラクトマンナン類、澱粉、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩（アルギン酸ナトリウム、アルギン酸カリウム）、キサンタンガムやプルランなどの増粘多糖類、キチン又はキトサンなどを配合してなる微生物産生高分子剤を含むこともできる。さらに任意成分として、微生物の生育に有用な栄養剤（例えば、グリセロール、リボフラビン、カゼイン、ポリペプトン、肉エキス、大豆粕、酵母エキス、セルロース、グルコース、コーン抽出物、粉末ホエー、粉末ホエー、CSL、澱粉、各種ビタミン類（チアミン、ビオチン、

ニコチン酸アミド、パントテン酸カルシウム) )、またはアミラーゼ、プロテアーゼ若しくはリパーゼなどの各種分解酵素を含むことができる。

本発明の微生物処理剤は、微生物、微生物産生高分子（又は微生物産生高分子剤）及び任意成分を混合した後、水分下で包括状態にし、さらに必要に応じて混練、ペレット化、乾燥などの各種の工程を経て、半乾燥若しくは乾燥製剤として調製されることが好ましい。かかる微生物処理剤の形態は特に制限されないが、顆粒状、粉末状、錠剤状、丸剤状、スラリー状、フレーク状、不溶性担体に固定化した状態等を例示することができる。

微生物を利用して環境汚染物質を資化分解する生物浄化方法において、本発明の方法によれば、微生物と環境汚染物質が微生物産生高分子によって包括されることによって、微生物の周囲を取り巻く微生物産生高分子の保護作用により、微生物に対する環境汚染物質の阻害が抑制される。また環境汚染物質の周囲を取り巻く微生物産生高分子の作用により環境汚染物質が凝集濃縮されて、高濃度状態で微生物との共存状態が形成され、これによって微生物産生高分子体の中で効率よく資化分解される。好ましい実施形態としては、微生物としてPseudomonas属、Rhodococcus属、Aeromonas属、Rhizobium属、Sphingomonas属、Arthrobacter属、Frateriia属、Flavobacterium属またはBacillus属のうち少なくとも1種、好ましくは2種以上の菌を含むように調製され、これにより一層効果的に環境汚染物質の資化分解が促進できる。また、微生物産生高分子が、フラクトシル基にフラクトフラノシル基が $\beta$ -2, 6で結合している糖成分を有していたり、グルタミン酸、ロイシン、アラニン又はフェニルアラニンを含有するポリアミン酸であると、微生物に対する環境汚染物質の阻害作用がより一層弱まり、微生物が効率よく増殖できて、効果的に環境汚染物質を生物浄化することができる。

### 実 施 例

以下、本発明の内容を以下の実施例を用いて具体的に説明する。ただし、これらの実施例は本発明の一態様にすぎず、本発明はこれらの例に何ら限定されるものではない。

#### 実施例 1

市販の納豆より分離したBacillus natto菌株を、ペプトン（ダイゴ栄養社製）10 g/L、肉エキス（ダイゴ栄養社製）10 g/L、デキストリン（ダイゴ栄養社製）10 g/Lを含む培養培地に接種し、48時間、30℃で通気性で培養して得た培養液を、遠心分離することによって固液分離した。この分離液に90%のエタノールを加えて、生じた沈殿物をさらに水洗し、さらにエタノール溶液と水との洗浄を繰り返して、ポリグルタミン酸を得た。これに塩化カルシウムを5重量%の割合で加えて、微生物産生高分子剤を調製した。

### 実施例 2

市販微生物剤（バイオミュー C-100（バチルス・スプチノムス、バチルス・リゲフォルムスの混合物）；株C・P・R社製）に実施例1で調製した微生物産生高分子剤を1重量%の割合で添加して混合し、次いで水50重量%及びデキストリン5重量%を加えて十分攪拌することによって微生物をポリグルタミン酸に包括させ、これによって本発明の微生物処理剤を調製した。

### 実施例 3

環境汚染物質として焼却灰に含まれているダイオキシンを使用した。具体的には地方自治体の焼却灰を1 kgを20 Lの水に分散させ、濾紙で固形物を分離して得た濾過液を濃縮して、ダイオキシンを含む廃液2 Lを得た。この液を2分し、それぞれに実施例2で調製した微生物処理剤を10 gずつ加え、更に一方には実施例1で調製した微生物産生高分子剤（ポリグルタミン酸+塩化カルシウム）を50 g加えた。この液を30℃で20日間、振盪培養し、ダイオキシンの分解効果を調べた。測定は、平成10年（1998）1月付け日本国環境庁水質保全局土壤農薬課発行の「ダイオキシン類に係る土壤調査暫定マニュアル」に基づいて行った。結果を表1に示す。なお、表中、T<sub>4</sub>CDDsは2,3,7,8-テトラクロロジベンゾパラジオキシン(2,3,7,8-T<sub>4</sub>CDDs)、P<sub>5</sub>CDDsは1,2,3,7,8-ペンタクロロジベンゾパラジオキシン(1,2,3,7,8-P<sub>5</sub>CDDs)、H<sub>6</sub>CDDsは1,2,3,7,8,9-ヘキサクロロジベンゾパラジオキシン(1,2,3,7,8,9-H<sub>6</sub>CDDs)、H<sub>7</sub>CDDsは1,2,3,4,6,8,9-ヘプタクロロジベンゾパラジオキシン(1,2,3,4,6,8,9-H<sub>7</sub>CDDs)、H<sub>8</sub>CDDsはオクタクロロジベンゾパラジオキシン、全PCDDsは、ポリ塩化ジベンゾパラジオキシン総てを意味する。

【表1】

ダイオキシン	ダイオキシン包括前 (ng/g)	ダイオキシン包括後 (ng/g)	
		微生物包括あり	微生物非包括
T <sub>4</sub> CDDs	1.7	1.3	1.6
P <sub>5</sub> CDDs	2.9	1.4	2.1
H <sub>6</sub> CDDs	2.3	1.9	2.1
H <sub>7</sub> CDDs	2.2	0.9	1.5
H <sub>8</sub> CDDs	1.9	0.5	1.1
全PCDDs	11.0	6.0	8.4

この結果より、本発明の微生物産生高分子剤で環境汚染物質（ダイオキシン）を包括することによって、当該汚染物質の微生物分解が促進されることが示された。

#### 実施例 4

微生物産生高分子として製紙工程の白水から得られるレバンを使用した。具体的には白水10kgに卵白リゾチーム（ナガセ生化学（株））0.5g加え、30℃で24時間酵素反応させて混在している細菌を分解した。次いで、篩い（50メッシュ）で固形分を除去し懸濁液を得、この懸濁液のpHを中性にした後、90%エタノールを20重量%加えて除蛋白処理を行って蛋白質を沈殿させてこれを濾過した。得られた濾液に更に90%エタノールを最終濃度が50重量%となるように加えて、生じた沈殿物をレバンとして乾燥して、下記の実験に使用した。

フラボバクテリウム属の細菌（FERM P-17663）を培地（ポリペプトン8g/L、肉エキス8g/L、酵母エキス0.01g/L、澱粉10g/L、NaCl0.1g/L）に接種し、pH7、30℃の条件下で48時間培養した後、遠心分離することによってペレット画分（菌体を含む）を回収した。このペレット画分に上記レバンを同量加えて混合し、水の存在下で混練りして、菌体とレバンとを包括させた。

一方、環境汚染物質としてセレン放電管製造工場で排出されるセレンを用いた。

具体的にはセレン  $100 \mu\text{g/L}$  を含む廃液  $1 \text{ m}^3$  を濃縮してセレン濃度を  $100 \text{ mg/L}$  にし、これに上記で調製した微生物産生高分子（レバン）を  $100 \text{ mg/L}$  となるように加えてセレンを包括した。次いでセレンが包括された状態の廃液に、上記のレバン包括フラボバクテリウム菌体を  $200 \text{ mg/L}$  の割合で加えて、20日間、 $30^\circ\text{C}$  で振盪培養した（ $30^\circ\text{C}$ 、 $\text{pH}7$ ）。その後、培養液を遠心分離し、上清に含まれるセレンの濃度を測定した。またペレットに $\beta$ -グルカナーゼを作用させてペレット中に含まれるレバンを分解し溶出させた。さらに、この溶出液を濾過して不溶性物としてフラボバクテリウムの菌体を得た。菌体表面のセレンを除去するために菌体を十分に洗浄した後、菌体を $\text{NaCO}_3$ で加水分解し、菌体成分を溶出させた。次いでレバン分解液及び菌体洗浄液中に含まれるセレンの濃度、及び菌体内に含まれるセレンの濃度をそれぞれ測定した。各フラクションのセレンの濃度の測定結果を、微生物産生高分子によって包括処理した場合としない場合とで比較した結果を表2に示す。

【表2】

	セ レ ン 濃 度 (mg)			
	処理前	処 理 後		
		上 清	レバン分解液 + 菌体洗浄液	菌体内
包括処理	200	0	0	140
未処理	200	198	2	0

この結果から分かるように、微生物及び環境汚染物質（セレン）を微生物産生高分子による包括状態で共存させることにより、殆ど全てのセレンが菌体内に取り込まれ資化分解に供され、無機態のセレンから無害の有機態セレンに変換することがわかった。さらにその効果は、微生物及び環境汚染物質（セレン）を微生物産生高分子で包括させない場合に比べて顕著であった。

## 請求の範囲

1. 環境汚染物質及び微生物をそれぞれ微生物産生高分子との包括状態のもとで共存させることを特徴とする、環境汚染物質の浄化処理方法。
2. 微生物産生高分子として、フラクトシル基にフラクトフラノシル基が $\beta-2,6$ で結合している糖成分を含有する高分子を用いることを特徴とする請求項1記載の環境汚染物質の浄化処理方法。
3. 微生物産生高分子として、グルタミン酸、ロイシン、アラニン及びフェニルアラニンよりなる群から選択される少なくとも1種のアミノ酸を含むポリアミノ酸を用いることを特徴とする請求項1記載の環境汚染物質の浄化処理方法。
4. 微生物産生高分子として、グルタミン酸、ロイシン、アラニンまたはフェニルアラニンから実質的に構成されるポリアミノ酸を用いることを特徴とする請求項1記載の環境汚染物質の浄化処理方法。
5. 微生物産生高分子として、グルタミン酸、ロイシン、アラニン及びフェニルアラニンよりなる群から選択される1種のアミノ酸を65%以上の割合で含むポリアミノ酸を用いることを特徴とする請求項1記載の環境汚染物質の浄化処理方法。
6. 微生物産生高分子をカチオン性無機塩の存在下で用いることを特徴とする請求項1に記載の環境汚染物質の浄化処理方法。
7. カチオン性無機塩が、塩化アルミニウム、硫酸アルミニウム、アルミン酸ナトリウム、塩化カルシウム、硫酸第1鉄、塩化第二鉄、硫酸第3鉄及び塩化コッパラスよりなる群から選択されるいずれか少なくとも1種である請求項6記載の環境汚染物質の浄化処理方法。

8. 微生物が、Pseudomonas属、Rhodococcus属、Aeromonas属、Rhizobium属、Sphingomonas属、Arthrobacter属、Frateriella属、Flavobacterium属及びBacillus属よりなる群から選択される属に属する微生物の少なくとも1種である請求項1に記載の環境汚染物質の浄化処理方法。

9. 環境汚染物質が、ポリ塩素化ビフェニル、ダイオキシン、ジクロロエチレン、ジクロロエタン、トリクロロエチレン、トリクロロエタン、水銀若しくはその化合物及びセレン若しくはその化合物よりなる群から選択される少なくとも1種である請求項1に記載の環境汚染物質の浄化処理方法。

10. 微生物が微生物産生高分子に包括されてなる微生物処理剤。

11. 微生物が、Pseudomonas属、Rhodococcus属、Aeromonas属、Rhizobium属、Sphingomonas属、Arthrobacter属、Frateriella属、Flavobacterium属及びBacillus属よりなる群から選択される属に属する微生物の少なくとも1種である請求項10に記載の微生物処理剤。

12. 微生物が、Pseudomonas属、Rhodococcus属、Aeromonas属、Rhizobium属、Sphingomonas属、Arthrobacter属、Frateriella属、Flavobacterium属及びBacillus属よりなる群から選択される属に属する微生物の2種以上の混合物である請求項10に記載の微生物処理剤。

13. 微生物産生高分子が、フラクトシル基にフラクトフラノシル基が $\beta$ -2, 6で結合している糖成分を含有する高分子、またはグルタミン酸、ロイシン、アラニン及びフェニルアラニンよりなる群から選択される少なくとも1種のアミノ酸を含むポリアミノ酸である請求項10に記載の微生物処理剤。

14. 微生物産生高分子が、グルタミン酸、ロイシン、アラニンまたはフェニルア



ラニンから実質的に構成されるポリアミノ酸である請求項 10 記載の微生物処理剤。

15. 微生物産生高分子が、グルタミン酸、ロイシン、アラニン及びフェニルアラニンよりなる群から選択される 1 種のアミノ酸を 65 % 以上の割合で含むポリアミノ酸である請求項 10 記載の微生物処理剤。

16. 微生物産生高分子をカチオン性無機塩との共存状態で用いる請求項 10 に記載の微生物処理剤。

17. カチオン性無機塩が塩化アルミニウム、硫酸アルミニウム、アルミン酸ナトリウム、塩化カルシウム、硫酸第 1 鉄、塩化第二鉄、硫酸第 3 鉄及び塩化銅よりなる群から選択されるいずれか少なくとも 1 種である請求項 16 記載の微生物処理剤。

18. 環境汚染物質を資化分解するために使用される請求項 10 記載の微生物処理剤。

19. 環境汚染物質が、ポリ塩素化ビフェニル、ダイオキシン、ジクロロエチレン、ジクロロエタン、トリクロロエチレン、トリクロロエタン、エチレン、水銀若しくはその化合物及びセレン若しくはその化合物よりなる群から選択される少なくとも 1 種である請求項 18 に記載の微生物処理剤。

## 要 約 書

本発明は、環境汚染物質を微生物を利用した生物処理によって浄化する場合において、環境汚染物質を効率的に濃縮しながらも、該汚染物質を生分解するために使用する微生物の生物活性が上記濃縮された高濃度の環境汚染物質によってもほとんど影響を受けずに、効果的に環境汚染物質を浄化（資化分解）する方法を提供する。また本発明はかかる環境汚染物質の浄化に好適に利用される微生物処理剤を提供する。具体的には、本発明の環境汚染物質の浄化処理方法は、環境汚染物質と微生物をそれぞれ微生物産生高分子との包括状態のもとで共存させることによって実施できる。また本発明の微生物処理剤は、微生物が微生物産生高分子に包括されてなるものである。

09731963 120800